Aus dem Fachbereich Klinische Forschung der
Schering AG, Berlin (Direktor: Prof. Dr. G. Laudahn)

Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Norgestrel beim Kaninchen unter besonderer Berücksichtigung des Überganges in das Ejakulat und der vaginalen Rückresorption.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Dagmar Kielmann, geb. Bohlmann
aus Schleswig

Berlin 1973

1974

Aus dem Fachbereich Klinische Forschung der
Schering AG, Berlin (Direktor: Prof. Dr. G. Laudahn)

Untersuchungen zur Pharmakokinetik von Norgestrel beim Kaninchen unter besonderer Berücksichtigung des Überganges in das Ejakulat und der vaginalen Rückresorption.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Dagmar Kielmann, geb. Bohlmann
aus Schleswig

Berlin 1973

Referent: Prof. Dr. med. Laudahn

Korreferent: Prof. Dr. med. Kewitz

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am 2o.Juni 1974

Druck: Der Präsident der Freien Universität Berlin – Zentrale Universitätsdruckerei V aA 4, 1 Berlin 41

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Fragestellung	4
2	Material und Methodik	8
2.1	Radioaktive Markierung	8
2.2	Tiermaterial	8
2.3	Fütterung während der Versuchsdurchführung .	8
2.4	Applikationsform, galenische Zubereitung . .	9
2.5	Radioaktivitätsbestimmungen	9
2.5.1	Radioaktivitätsbestimmung im peripheren Venenblut	9
2.5.2	Radioaktivitätsbestimmung in Harn und Faeces	1o
2.5.3	Radioaktivitätsbestimmung in den Organen . .	1o
2.5.4	Radioaktivitätsbestimmung in Sperma und Ejakulatflüssigkeit	11
2.6	Versuchsanordnungen	11
2.6.1	^{3}H-Elimination über Harn und Faeces	11
2.6.2	Einmalige orale Applikation	12
2.6.3	Wiederholte orale Applikation	12
2.6.4	Intraglutaeale Applikation	13
2.6.5	Verteilung in den Organen	13
2.6.6	Insemination	13
3	Ergebnisse	15
3.1	^{3}H-Elimination über Harn und Faeces	15
3.2	Radioaktivitätskonzentration in Blut und Ejakulat nach einmaliger oraler Applikation	16
3.3	Radioaktivitätskonzentration in Blut und Ejakulat nach wiederholter oraler Applikation .	19
3.4	Verteilung der Radioaktivitätskonzentration auf einzelne Organe nach wiederholter Applikation	21

3.5 Radioaktivitätskonzentration in Blut und Ejakulat nach einmaliger intraglutaealer Applikation 22
3.6 Verteilung der Radioaktivitätskonzentration auf die einzelnen Organe nach intraglutaealer Applikation 24
3.7 Verteilung der Radioaktivitätskonzentration auf die einzelnen Organe von weiblichen Tieren nach Insemination 24

4 Diskussion 26

5 Zusammenfassung 3o

6 Literaturverzeichnis 32

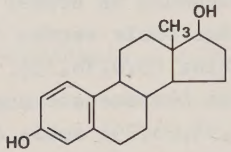
1 Einleitung und Fragestellung

Gestagene haben in den letzten 2o Jahren eine außerordentlich breite Anwendung vor allem in Kombination mit Östrogenen als Bestandteile kontrazeptiv wirkender Präparate gefunden (7,11,17,18,23). Tabelle 1 und 2 geben eine Übersicht über in diesem Zusammenhang wichtige natürliche und synthetische Steroidhormone.
Im komplexen Wirkungsmechanismus der Steroide steht die Ovulationshemmung an erster Stelle (18). In Abhängigkeit von der Dosis werden ferner Eitransport und Nidation (3,8,1o,13), molekulare Struktur und chemische Zusammensetzung des Zervikalschleims (14,15,2o,25) sowie der Endometriumflüssigkeit (19,24) und die Spermienkapazitation (1,2,5,9,11) derart beeinflußt, daß eine Konzeption erschwert oder unmöglich gemacht wird.
Von den bekannten synthetischen Gestagenen ist Norgestrel die Substanz mit der größten Wirksamkeit (22). Die Verbindung wirkt nicht nur bei oraler oder subcutaner Applikation, sondern wird auch bei vaginaler Gabe außerordentlich gut resorbiert (12).
Nach Applikation beim Mann können Gestagene auch im Ejakulat nachgewiesen werden (21).
Im Zusammenhang mit der Frage, ob eine beim Mann applizierte Substanz dem weiblichen Organismus auf dem Umweg über das Ejakulat zugeführt werden kann, ist im Rahmen der Pharmakokinetik das Interesse besonders auf die Substanzkonzentrationen im Ejakulat und in den

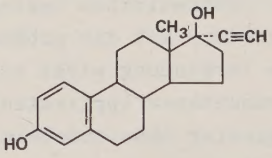
Tabelle 1

Oestrogene

Oestradiol



17α Äthinyl- Oestradiol



Mestranol

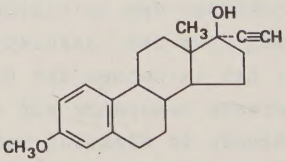
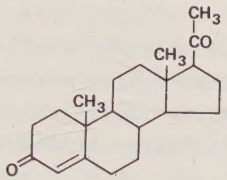


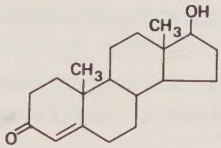
Tabelle 2

Progesteron, Testosteron und synthetische Gestagene

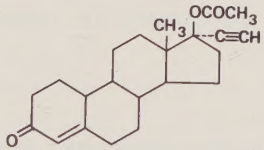
Progesteron



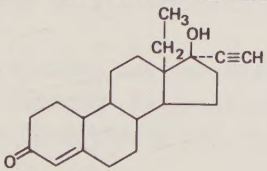
Testosteron



Norethisteron-acetat



Norgestrel



akzessorischen Geschlechtsdrüsen zu richten. Dabei ist zu untersuchen, wieviel in der Ejakulatflüssigkeit und wieviel in den Spermien enthalten ist. Nach Insemination der weiblichen Tiere mit norgestrelhaltigem Ejakulat wird eine Untersuchung der weiblichen Geschlechtsorgane der behandelten Tiere folgen müssen. Diese Probleme werden in der vorliegenden Arbeit behandelt. Folgende Fragen wurden bearbeitet:

1. Wie hoch ist nach einmaliger und wiederholter oraler und intraglutaealer Applikation beim Kaninchen die Konzentration von Norgestrel im Blut im Verhältnis zu den beiden Ejakulatkompartimenten?

2. Wie hoch sind die Norgestrelkonzentrationen in den akzessorischen Geschlechtsdrüsen?

3. Findet nach einer Insemination norgestrelhaltigen Ejakulats ein meßbarer Übergang der Substanz in die weiblichen Genitalorgane und Organismus statt?

2 Material und Methodik

2.1 Radioaktive Markierung und spezifische Aktivität

Es wurde 14,15 ^{3}H-17-Aethinyl-17-hydroxy-18-methyl-4-östren-3-on (^{3}H-Norgestrel)$^{+}$ verwendet. Die spezifische Aktivität der Substanz für Untersuchungen über die Ausscheidung mit Harn und Faeces betrug 2,39 mci/mg. In allen anderen Versuchen wurde Norgestrel mit einer spezifischen Aktivität von 932 µci/mg verwendet. Die radiochemische Reinheit der benutzten Substanz war besser als 98 %, nachgewiesen durch Dünnschichtchromatographie (zwei verschiedene Systeme)und inverse Isotopenverdünnungsanalyse.

2.2 Tiermaterial

Es wurden geschlechtsreife männliche Kaninchen mit Gewichten um 4,o kg und geschlechtsreife weibliche Kaninchen mit Gewichten um 3,5 kg verwendet.

2.3 Fütterung während der Versuchsdurchführung

Die Tiere wurden mit Mischvegetabilien, Trockenfutter und Wasser ad libitum gefüttert.

$^{+}$Herrn Dr. P.E. Schulze aus dem Department Biodynamik der Schering AG danke ich für Herstellung und Überlassung der radioaktiven Substanzen.

2.4 Applikationsform, galenische Zubereitung

Einmalige und wiederholte orale Applikation : mit Milchzucker mikronisierte Substanz (Teilchengröße 5-2o µ) als Gelatinekapsel. Die Applikation erfolgte mit einem besonderen, in der Firma Schering entwickelten Applikator. Intraglutaeale Applikation: einmalig als Lösung in Rizinusöl-Benzyl-Benzoat in den M. glutaeus maximus.

2.5 Radioaktivitätsbestimmungen

2.5.1 Radioaktivitätsbestimmung im peripheren Venenblut

Die Blutentnahmen erfolgten durch Einzelpunktionen der vena marginalis des Ohres. Das Blut wurde in Röhrchen aufgefangen, die Heparin als Antikoagulans enthielten. Dreimal jeweils o,5 ml Blut wurden bei 5o°C getrocknet und in einem halbautomatischen Sample Oxidizer (Tri Carb Modell 3o5, Firma Packard Instruments) verbrannt. Der Rückstand wurde in 15 ml Scintillatorlösung (Zusammensetzung: 5oo g Naphtalin, 25 g PPO[+], 15oo mg POPOP[++] in 2 l Toluol und 2 l Dioxan) und 1 ml Methanol als Lösungsvermittler aufgenommen. Für die Scintillationszählung aller Proben wurde ein Liquid Scintillation Spectrometer (Tri Carb Modell 338o, Firma Packard Instruments) verwendet. Die Diskriminatorein-

[+] PPO = 2,5-Diphenyloxazol
[++] POPOP = 2,2'-ϒ-Phenylen-bis-5-phenyloxazol

stellung erfolgte bis zum oberen Ende des Energiespektrums von Tritium. Die Zählausbeute betrug etwa 35 %.

2.5.2 Radioaktivitätsbestimmung in Harn und Faeces

Harn und Faeces wurden quantitativ und getrennt in Fraktionen gesammelt. o,5 ml Urin wurden bei 5o°C getrocknet und so weiterbehandelt, wie beim Blut beschrieben.
Die Faeces wurden gefriergetrocknet (Gefriertrockenanlage von WKF, Typ C2, Betriebsbedingungen -4o°C und $1o^{-2}$ Torr) und anschließend mit einem Mahlwerk fein zerkleinert und gut durchmischt. 5o mg wurden verbrannt und ebenfalls so weiterbehandelt, wie beim Blut beschrieben.

2.5.3 Radioaktivitätsbestimmung in den Organen

Die Tiere wurden durch Nackenschlag getötet und entblutet, die Organe sofort entnommen, gewogen und gefriergetrocknet (Bedingungen wie bei den Faeces). Anschließend erfolgte Organzerkleinerung mit einem Mahlwerk und gründliche Durchmischung. Drei Proben von je 5o mg wurden verbrannt und weiterbehandelt, wie beim Blut beschrieben.

2.5.4 Radioaktivitätsbestimmung in Sperma und Ejakulatflüssigkeit

Die Entsamung der männlichen Tiere erfolgte mit Hilfe einer künstlichen Vagina (Ein mit warmem Wasser gefülltes Glasgefäß, durch das ein Gummischlauch gespannt war). Das Ejakulat wurde bei 3ooo U/min 1o Minuten zentrifugiert, die Flüssigkeit abpipettiert, das Sperma mit o,22 ml Kochsalzlösung aufgeschüttelt und erneut zentrifugiert. Man pipettierte den Überstand wieder ab, schüttelte das Sperma mit o,22 ml Kochsalzlösung auf und zentrifugierte. Nach Abpipettieren des Überstandes folgte Gefriertrocknung des Spermas (Bedingungen wie bei den Faeces), Wiegen, Verbrennen und Weiterbehandlung, wie beim Blut beschrieben. Die Scintillationszählung von o,1 ml Ejakulatflüssigkeit erfolgte direkt in je 2o ml wässeriger Scintillatorlösung (Zusammensetzung: 1oo g Naphtalin, 1o g PPO, o,25 g POPOP in 1ooo ml Dioxan).

2.6 Versuchsanordnungen

2.6.1 ^{3}H-Elimination über Harn und Faeces

Zur Untersuchung der ^{3}H-Elimination über Harn und Faeces wurde vier Tieren einmalig eine Kapsel mit 1oo µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht verabreicht. Die Tierhaltung erfolgte

während der Versuchsdauer in Stoffwechselkäfigen. Man sammelte Harn und Faeces quantitativ und fraktioniert zunächst stündlich bis 8 Stunden post applicationem, dann 24 Stunden post applicationem und weiter täglich.

2.6.2 Einmalige orale Applikation

Zur Untersuchung der Konzentration der Radioaktivität im peripheren Venenblut und im Ejakulat wurde 1o Tieren 25o µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht und 12 Tieren 1oo µg ^{3}H-Norgestrel pro kg Körpergewicht verabfolgt.
In dem Versuch mit der höheren Dosis erfolgten die Blutabnahmen 4 h, 8 h, 24 h, 32 h und 48 h nach der Applikation.
Nach Applikation von 1oo µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht erfolgten die Blutabnahmen 8 h, 24 h, 2 d, 4 d, 6 d und 7 d p.a., Ejakulate wurden nach 24 h, 2 d, 4 d und 6 d entnommen.

2.6.3 Wiederholte orale Applikation

Zur Untersuchung der Radioaktivitätskonzentration im peripheren Venenblut und im Ejakulat nach wiederholter oraler Applikation erhielten 6 Tiere an 7 aufeinanderfolgenden Tagen täglich je eine Kapsel mit 2o µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht. Den Tieren wurde 8 h und 24 h nach der täglichen Dosis Blut abgenommen und jeweils 8 h nach Eingabe wurden sie entsamt.

2.6.4 Intraglutaeale Applikation

Zur Untersuchung der Resorption von ^{3}H-Norgestrel aus einem Muskeldepot wurde 7 Tieren einmalig 9o µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht appliziert. Die Applikation erfolgte in den M. glutaeus maximus. Blutentnahmen erfolgten 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 24 h und weiter täglich bis zum siebenten Tag post applicationem. Die Ejakulate wurden am 1., 3., 5. und 7. Tag p. a. entnommen.

2.6.5 Verteilung in den Organen

Um eine Anreicherung der Substanz in den einzelnen Organen, besonders in den Genitalorganen, kontrollieren zu können, wurden 3 Tiere, die 7 Tage lang täglich 2o µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht erhalten hatten, 9 Tage nach Applikation der ersten Kapsel durch Nackenschlag getötet. Die Tiere wurden entblutet und die Organe sofort entnommen. Drei Tiere, die 9o µg ^{3}H-Norgestrel pro kg Körpergewicht intraglutaeal erhalten hatten, wurden 7 Tage nach der Applikation getötet.

2.6.6 Insemination

Um zu untersuchen, ob nach Insemination von ^{3}H-Norgestrel-haltigem Ejakulat ein Übergang in den weiblichen Organismus stattfindet, wurde 8 weiblichen Tieren o,25 ml Ejakulat inseminiert. Die Insemination erfolgte mit

einer Spritze durch einen Katheter tief in die Vagina. Der Katheter wurde anschließend mit 1 ml Haemaccel^{R} als Medium, in dem die Spermien beweglich bleiben, nachgespült.
Das Ejakulat wurde von 1o männlichen Tieren gewonnen, denen 8 Stunden vor der Entsamung 1oo µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht oral als Kapsel appliziert worden war.
Den weiblichen Tieren wurde 4 Stunden vor der Insemination Choriongonadotropin verabfolgt, um sicher eine Ovulation auszulösen und sie empfängnisbereit zu machen.
Der Versuch wurde in zwei Gruppen durchgeführt. In der ersten Versuchsgruppe war die ^{3}H-Konzentration im Ejakulat, das von den männlichen Tieren gesammelt worden war, so, daß sich für jedes weibliche Tier 1o ng Substanz pro kg Körpergewicht ergaben. In der zweiten Versuchsgruppe ergab sich in den Ejakulaten eine Substanzkonzentration von 5 ng pro kg Körpergewicht für jedes weibliche Tier.
Vier Stunden nach der Insemination wurden die weiblichen Tiere durch Nackenschlag getötet, entblutet und die Organe sofort entnommen.

3 Ergebnisse

3.1 ^{3}H-Elimination über Harn und Faeces

Tabelle 3 zeigt die Ausscheidung der Radioaktivität über Harn und Faeces nach oraler Applikation von 100 µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht sowohl in den einzelnen Ausscheidungsfraktionen als auch kumulativ in Prozent der eingegebenen Aktivität am Beispiel von zwei von insgesamt vier Tieren.

Tabelle 3

^{3}H-Elimation über Harn und Faeces nach oraler Applikation von 100 µg ^{3}H-Norgestrel/kg KG zu den angegebenen Zeiten und in dem bis dahin abgelaufenen Zeitraum in % der eingegebenen Radioaktivität.

Tier	7214				7247			
Zeit	Urin		Faeces		Urin		Faeces	
	%dE	%dE add.	%dE	%dE add.	%dE	%dE add.	%dE	%dE add.
2h	0,6	0,6						
4h	2,5	3,1						
6h	7,0	10,1						
8h	18,6	28,7						
24h	19,1	47,8	0,1	0,1	3,4	3,4	2,1	2,1
2d	23,1	70,9	2,6	2,7	75,5	78,9	1,3	3,4
3d	3,1	74,0	4,1	6,8	1,3	80,2	2,8	6,2
4d	0,0	74,0	1,1	7,9	0,7	80,9	1,0	7,2
5d	1,4	75,4	1,5	9,4	0,2	81,1	0,5	7,7
6d	0,4	75,8	0,6	10,0	0,2	81,3	0,4	8,1
7d	0,3	76,1	0,5	10,5	0,1	81,4	0,2	8,3
8d	0,1	76,2	0,2	10,7	0,1	81,5	0,1	8,4

3.2 Radioaktivitätskonzentration in Blut und Ejakulat nach einmaliger oraler Applikation

Tabelle 4 gibt die Mittelwerte der Radioaktivitätskonzentration in Blut und Ejakulat an. Die mittleren Ejakulatvolumina lagen zwischen o,25 und o,4o ml. Die Radioaktivitätskonzentration im Blut ist berechnet auf ng/ml. Die Radioaktivitätskonzentration im Ejakulat ist aufgeteilt in Konzentration in ng/ml Ejakulatflüssigkeit und ng Aktivität, die in dem Spermasediment

Tabelle 4

^{3}H-Konzentration im peripheren Venenblut und im Ejakulat, aufgeteilt in Spermasediment/ml Ejakulat und Ejakulatflüssigkeit nach oraler Applikation von 250 µg ^{3}H-Norgestrel/kg KG. Die Berechnung erfolgte in ng/ml Blut, ng/ml Ejakulatflüssigkeit, ng/ml Ejakulat und ng im Spermasediment von 1 ml Ejakulat. n = 10, Mittelwerte +

Zeit	Blut ng/ml	Ejakulatfl. ng/ml	Spermased./ ml, ng	Ejakulat ng/ml
4h	77,786	39,116	1,122	40,238
8h	48,593	88,554	7,253	95,807
24h	16,608	158,148	0,917	159,065
32h	10,250	98,430	1,873	100,303
2d	8,050	1,725	0,209	1,934

+Die Angaben der gemessenen ^{3}H-Konzentrationen erfolgten zur Veranschaulichung der Größenordnungen in ng, obwohl außer Norgestrel Stoffwechselprodukte zu erwarten sind (6). Die beobachteten Streuungen betrugen bei den Blutwerten 7,2 - 18,5 % und lagen bei den aus dem Ejakulat gewonnenen Werten erwartungsgemäß sehr hoch (15 - 83 %).

von 1 ml Ejakulat enthalten war. Die Summe der beiden Werte ergibt die Substanzkonzentration in ng/ml Ejakulat. Die ^{3}H-Norgestrel-Dosis betrug 25o µg/kg Körpergewicht.

Abbildung 1 stellt den Verlauf der Radioaktivitätskonzentration in Blut und Ejakulat nach oraler Applikation von 25o µg ^{3}H-Norgestrel pro kg Körpergewicht als Mittelwerte von 1o Tieren dar.

Konzentration (ng/ml) von ^{3}H-Norgestrel im peripheren Venenblut und im Ejakulat nach oraler Applikation von 25o µg ^{3}H-Norgestrel/kg KG (n = 1o, Mittelwerte)

Abb. 1

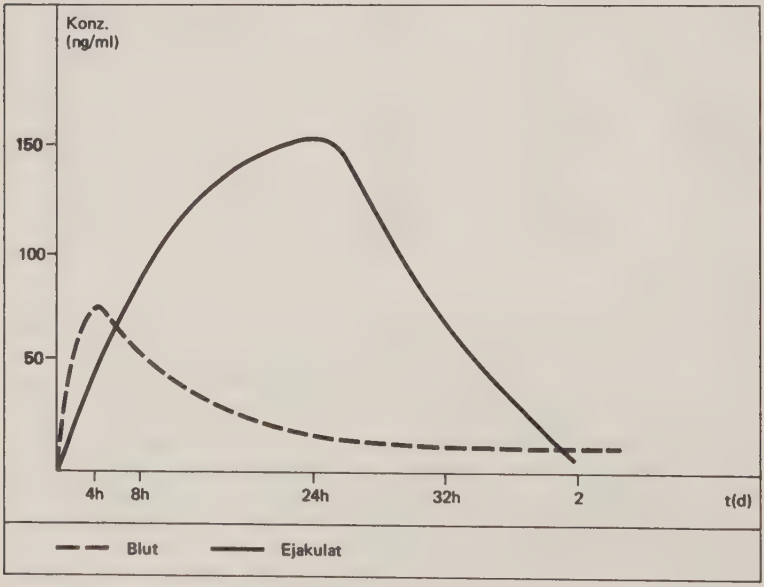


Tabelle 5 gibt die Mittelwerte der Radioaktivitätskonzentrationen in Blut und Ejakulat nach oraler Applikation von 1oo µg ^{3}H-Norgestrel pro kg Körpergewicht an. Die mittleren Ejakulatvolumina lagen zwischen o,2o und o,26 ml. Die Radioaktivitätskonzentrationen sind aufgeteilt wie im vorhergehenden Versuch.

Tabelle 5

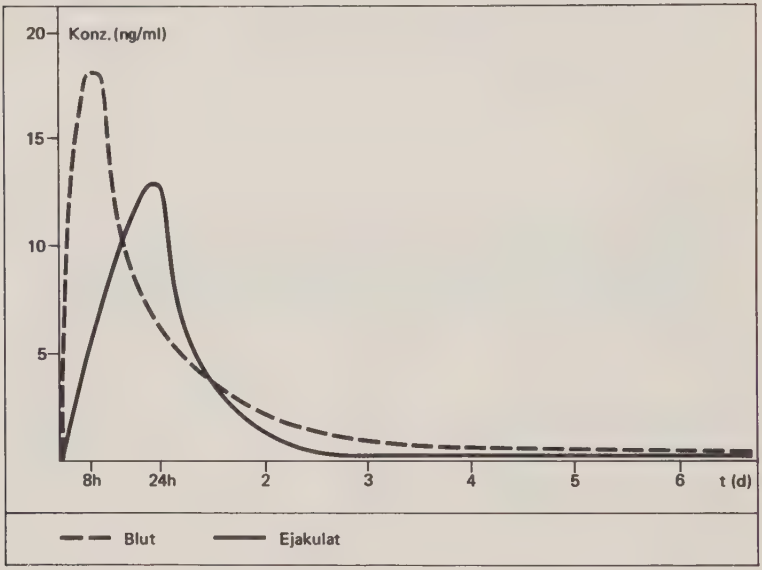
^{3}H-Konzentration im peripheren Venenblut und im Ejakulat, aufgeteilt in Spermasediment/ml Ejakulat und Ejakulatflüssigkeit, nach oraler Applikation von 100 µg ^{3}H-Norgestrel/kg KG. Die Berechnung erfolgte für die Flüssigkeiten in ng/ml und in ng für die Substanzmengen, die im Spermasediment von 1 ml Ejakulat enthalten sind. n = 12, Mittelwerte +

Zeit	Blut ng/ml	Ejakulatfl. ng/ml	Spermased./ ml, ng	Ejakulat ng/ml
8h	18,655			
24h	5,843	13,363	0,121	13,483
2d	1,853	1,241	0,123	1,364
4d	0,571	0,403	0,119	0,522
6d	0,267	0,108	0,071	0,179
7d	0,213			

Abbildung 2 stellt den Verlauf der Radioaktivitätskonzentrationen in Blut und Ejakulat nach oraler Applikation von 1oo µg ^{3}H-Norgestrel pro kg Körpergewicht als Mittelwerte von 12 Tieren dar.

Konzentration (ng/ml) von ^{3}H-Norgestrel im peripheren Venenblut und im Ejakulat nach oraler Applikation von 1oo µg ^{3}H-Norgestrel pro kg KG (n = 12, Mittelwerte)

Abb. 2



3.3 Radioaktivitätskonzentration in Blut und Ejakulat nach wiederholter oraler Applikation

Tabelle 6 gibt die Radioaktivitätskonzentrationen in Blut und Ejakulat nach täglicher oraler Applikation von 2o µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht zu den angegebenen Zeiten an. Die mittleren Ejakulatvolumina lagen zwischen o,15 und o,33 ml. Das Ejakulat ist aufgeteilt in Ejakulatflüssigkeit und Spermasediment/ml Ejakulat. Bei den Flüssigkeiten erfolgte die Berechnung in ng/ml und für das Spermasediment in ng Substanz, die im Sediment von 1 ml Ejakulat enthalten ist.

Tabelle 6

^{3}H-Konzentration im peripheren Venenblut und im Ejakulat, aufgeteilt in Spermasediment/ml Ejakulat und Ejakulatflüssigkeit, nach täglicher (7d) oraler Applikation von 20 µg ^{3}H-Norgestrel/kg KG. Die Berechnung erfolgte für die Flüssigkeiten in ng/ml und für das Spermasediment in ng, die in 1 ml Ejakulat enthalten sind. n = 6, MW +

Zeit	Blut ng/ml		Ejakulatfl. ng/ml	Spermased./ ml, ng	Ejakulat ng/ml
	8h pa	24h pa			
1d	4,147	1,255	8,755	0,857	9,612
2d	4,570	1,773	3,885	0,278	4,163
3d	4,520	1,688	12,220	0,921	13,141
4d	4,375	1,830	5,013	0,653	5,666
5d	4,592	2,063	1,538	0,215	1,753
6d	4,848	1,928	2,018	0,325	2,343
7d	4,655	1,943	5,003	0,486	5,491
8d	1,527	0,953	0,243	0,000	0,243

Abb. 3

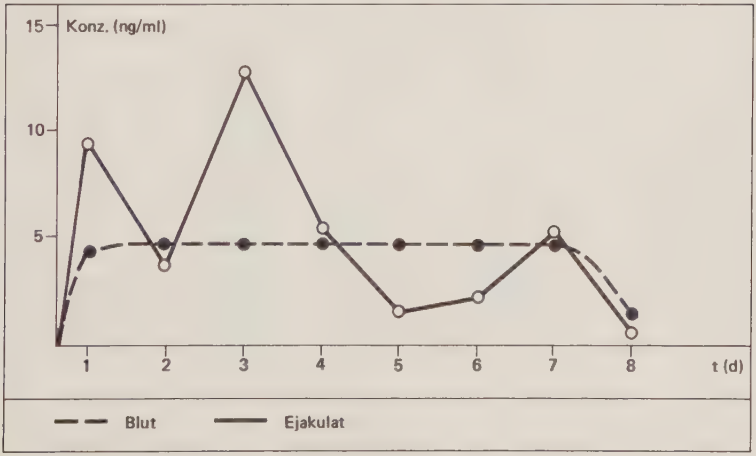


Abbildung 3 zeigt den Verlauf der Radioaktivitätskonzentrationen in Blut und Ejakulat nach täglicher (7Tage) oraler Applikation von 2o µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht als Mittelwerte von 6 Tieren.

3.4 Verteilung der Radioaktivitätskonzentration auf einzelne Organe nach wiederholter Applikation

Tabelle 7 gibt die Radioaktivitätskonzentration in den einzelnen Organen nach siebenmaliger Applikation von täglich 2o µg ^{3}H-Norgestrel pro kg Körpergewicht an. Die Berechnung erfolgte in ng/g Organfeuchtgewicht.

Tabelle 7

^{3}H-Konzentration in den einzelnen Organen nach wiederholter (7d) täglicher oraler Applikation von 20 µg ^{3}H-Norgestrel/kg KG. Die Berechnung erfolgte in ng/g Organfeuchtgewicht

Tier	7235	7245	7249	MW
Blut ng/ml	1,10	0,85	0,49	0,81
Hoden ng/g	0,13	0,14	0,10	0,12
Nebenhoden ng/g	0,21	0,25	0,45	0,30
Prostata ng/g	0,24	0,24	–	0,24
Samenbl. ng/g	0,24	0,21	0,57	0,34
Leber ng/g	22,36	14,28	15,87	17,50
NN ng/g	1,30	0,12	0,84	0,75

3.5 Radioaktivitätskonzentration in Blut und Ejakulat nach einmaliger intraglutaealer Applikation

Tabelle 8 zeigt die ^{3}H-Konzentration im peripheren Venenblut und im Ejakulat, aufgeteilt in Ejakulatflüssigkeit und Spermasediment von 1 ml Ejakulat, nach einmaliger intraglutaealer Applikation von 90 µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht als Mittelwerte von 7 Tieren. Die Berechnung bei den Flüssigkeiten erfolgte in ng/ml und beim Spermasediment in ng Substanz, die im Sediment von 1 ml Ejakulat enthalten ist.

Tabelle 8

^{3}H-Konzentration im peripheren Venenblut und im Ejakulat, aufgeteilt in Spermasediment/ml Ejakulat und Ejakulatflüssigkeit nach intraglutaealer Applikation von 90 µg ^{3}H-Norgestrel/kg KG. Die Berechnung erfolgte für die Flüssigkeiten in ng/ml und für das Spermasediment in ng, die in 1 ml Ejakulat enthalten sind. n = 7, MW +

Zeit	Blut ng/ml	Ejakulatfl. ng/ml	Spermased./ ml, ng	Ejakulat ng/ml
1h	5,771			
2h	8,536			
4h	10,493			
6h	12,123			
8h	13,347			
24h	9,393	0,350	2,240	2,590
2d	4,516			
3d	2,147	0,488	1,812	2,300
4d	1,187			
5d	0,771	0,142	1,531	1,673
6d	0,564			
7d	0,396	0,207	2,630	2,837

Konzentration (ng/ml) von ^{3}H-Norgestrel im peripheren Venenblut und im Ejakulat nach intraglutaealer Applikation von 9o µg ^{3}H-Norgestrel/kg KG (n = 7, MW)

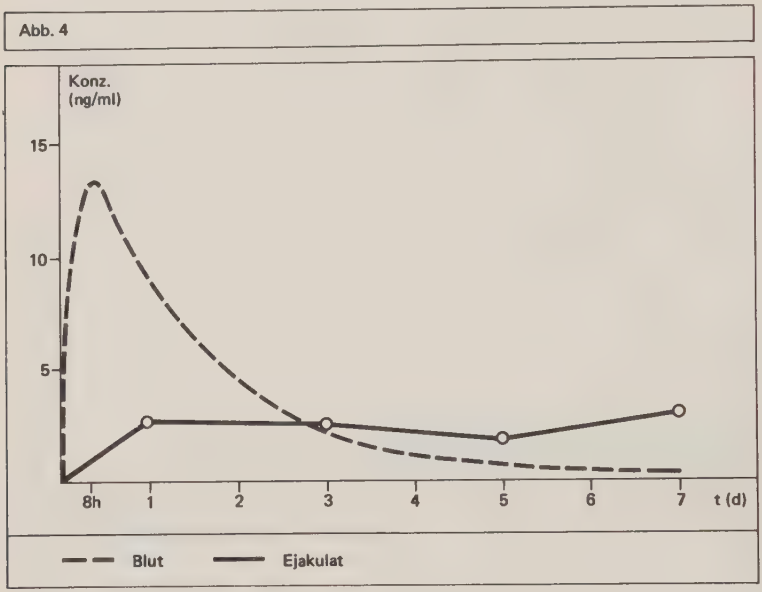


Abbildung 4 zeigt den Verlauf der Radioaktivitätskonzentrationen in Blut und Ejakulat nach einmaliger intraglutaealer Applikation von 9o µg ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht als Mittelwerte von 7 Tieren.

3.6 Verteilung der Radioaktivitätskonzentration auf die einzelnen Organe nach intraglutaealer Applikation

Tabelle 9 zeigt die Radioaktivitätskonzentration in den einzelnen Organen nach einmaliger intraglutaealer Applikation von 9o µg ^{3}H-Norgestrel pro kg Körpergewicht. Die Berechnung erfolgte in ng/g Organfeuchtgewicht.

Tabelle 9

^{3}H-Konzentration in den einzelnen Organen nach einmaliger intraglutaealer Applikation von 90 µg ^{3}H-Norgestrel/kg KG 7 Tage pa. Die Berechnung erfolgte in ng/g Organfeuchtgewicht.

Tier	7252	7260	7292	MW
Hoden (ng/g)	0,16	0,16	0,20	0,17
Nebenhoden (ng/g)	0,36	0,40	0,44	0,40
Prostata (ng/g)	0,20	0,24	0,24	0,23
Samenblase (ng/g)	0,20	0,16	0,24	0,20
Hypophyse (ng/g)	0,12	0,56	0,80	0,49
Inj. Bein (ng/g)	0,28	3,04	3,76	2,36
Leber (ng/g)	10,68	12,92	11,72	11,77
NN (ng/g)	1,64	2,16	2,40	2,07
Blut (ng/ml)	0,28	0,32	0,40	0,33

3.7 Verteilung der Radioaktivitätskonzentration auf die einzelnen Organe von weiblichen Tieren nach Insemination

Tabelle 1o zeigt die Radioaktivitätskonzentrationen in Ovarien, Tuben, Uterus, Vagina und Blut 4 h nach Insemination von o,25 ml Sperma, das 5 bzw. 1o ng ^{3}H-Norgestrel/kg Körpergewicht enthielt.

Tabelle 10

^{3}H-Konzentration in den Genitalorganen und dem Blut weiblicher Tiere nach Insemination von Ejakulat, das 10 ng ^{3}H-Norgestrel/kg KG enthielt (4h nach Insemination). Die Berechnung erfolgte in ng/g Organfeuchtgewicht, Blut in ng/ml.

Tier	1703	1704	1706	1707	MW
Blut	0,000	0,000	0,102	0,042	0,036
Tuben	0,532	0,126	0,067	0,086	0,203
Uterus	0,099	0,033	0,041	0,070	0,061
Vagina	0,182	0,216	0,196	0,086	0,170

Dosis im Ejakulat 5 ng ^{3}H-Norgestrel/kg KG

Tier	1701	1702	1994	1995	MW
Blut	0,014	0,012	0,059	0,013	0,024
Ovarien	0,028	0,010	0,036	0,026	0,025
Tuben	0,071	0,016	0,105	0,057	0,062
Uterus	0,015	0,037	0,030	0,023	0,026
Vagina	0,151	0,103	0,093	0,079	0,107

4 Diskussion

Der Stoffwechsel von Norgestrel wurde von GERHARDS und Mitarbeitern (6) am Menschen untersucht. Sie fanden ein linear dosisabhängiges Radioaktivitätsmaximum, einen im Vergleich zum Norethisteron langsameren Konzentrationsabfall und als Hauptausscheidungsweg die Nieren. Während der ersten 7 Stunden nach Applikation fanden sich 5o-7o % des Norgestrels frei extrahierbar, nach 48 und 72 Stunden noch etwa 35 %. Über einen Übergang von Substanzen in das Ejakulat, über die Wirkung auf das Sperma und bei der Frau über eine Ausscheidung applizierter Medikamente auf dem Wege der Lactation ist von Gerhards nichts gesagt.

Manche Präparate enthalten in ihren Packungsbeilagen und in dem entsprechenden ärztlichen Informationsmaterial den Hinweis: Kontraindikation: Schwangerschaft bzw. erstes Schwangerschaftstrimester. Amerikanische Präparate enthalten zum Teil den folgenden Text in der Beilage: "Usage in Pregnancy: Safe use of XYZ in pregnancy and lactation has not been established, therefore, its use in pregnancy, in nursing mothers, or in woman of childbearing potential requires that the possible benefits of the drug be weighed against the potential hazards." Die Richtlinien zur Arzneimitteltherapie enthalten den Hinweis: Frauen im ersten Trimester nicht behandeln bis die Unbedenklichkeit der Substanz bewiesen ist. Genaue Angaben zu dieser Frage

sind immer problematisch, bedenkt man die unterschiedlichen Verhältnisse vom Menschen und den Versuchstieren, die der gründlichen Erprobung der Substanz dienen. Auch die Anwendung von Steroidhormonen in der Schwangerschaft ist problematisch.

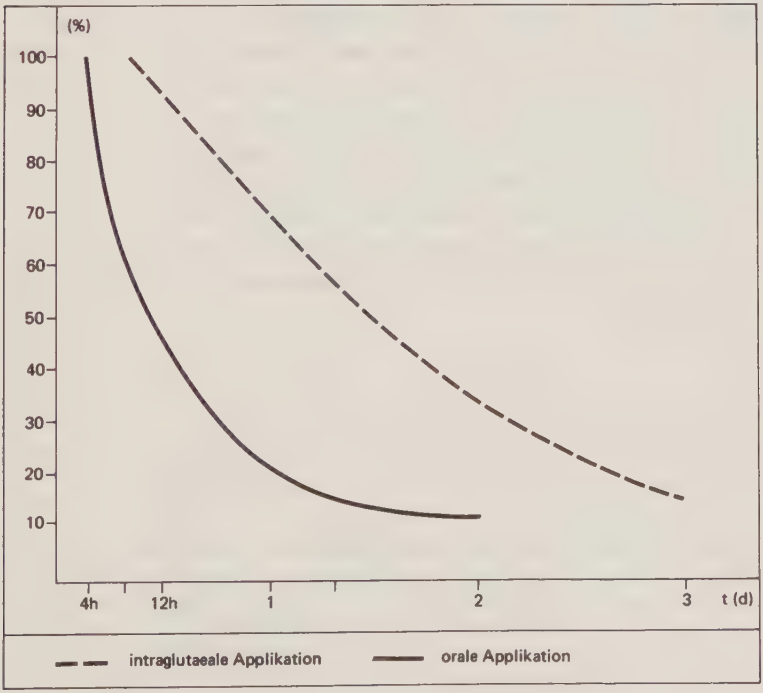
Bisher ist jedoch kaum bedacht worden, daß die Frau jede Substanz auch auf indirektem Wege erhalten kann, nämlich zum Beispiel bei der Kohabitation, wenn ihr Partner mit einem Medikament behandelt wird, das in das Ejakulat übergeht.

ERICSSON und Mitarbeiter (4) untersuchten beim Kaninchen nach Applikation von markierten Oestrogenen die Substanzkonzentrationen im Ejakulat. In seinen Ergebnissen zeigt die Gesamtaktivität im Ejakulat Schwankungen von mehr als 1oo %. 7,5 - 2o % der Gesamtaktivität im Ejakulat sind in den Versuchen von Ericsson an die Spermien gebunden. Radioaktivitätskonzentrationen im Blut zum Vergleich sind nicht angegeben. In den akzessorischen Geschlechtsdrüsen, die die Ejakulatflüssigkeit ausscheiden (16), fand Ericsson eine Anreicherung von Oestrogenen im Vergleich zum Hoden. In der Samenblase eines Tieres betrug die Substanzkonzentration das 5,1 fache der Konzentration im Hoden. Die Werte für die einzelnen Tiere schwanken.

SCHMUCKER (21) fand beim Menschen nach Applikation von Cyproteronacetat eine Ausscheidung der Substanz mit dem Ejakulat.

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Ausscheidung von Norgestrel mit dem Ejakulat beim Kaninchen festgestellt. Die Ausscheidung von Norgestrel mit dem Ejakulat wurde nach oraler einmaliger und wiederholter und nach einmaliger intraglutaealer Applikation untersucht. Abbildung 5 zeigt eine Gegenüberstellung des Konzentrationsabfalles der Substanz im Blut nach einmaliger oraler und intraglutaealer Applikation, bezogen auf das jeweilige Radioaktivitätsmaximum.

Abb. 5



Die Ausscheidung von Norgestrel mit dem Ejakulat zeigte bei keinen Versuchen ein konstantes Konzentrationsverhältnis zum Blutspiegel. Ein Grund für dieses Verhalten ist die physiologisch diskontinuierliche Produktionstätigkeit der akzessorischen Geschlechtsdrüsen.

Bei der Organuntersuchung von weiblichen Tieren nach Insemination von substanzhaltigem Ejakulat fanden sich in allen untersuchten Kompartimenten deutliche Zählwerte über dem Leerwert. Es ist also Substanz aus dem Ejakulat vaginal resorbiert worden. Damit wurde bestätigt, daß grundsätzlich die Möglichkeit besteht, dem weiblichen Organismus auf dem Umweg über das Ejakulat Substanzen zuzuführen. Im vorliegenden Fall betrug der Unterschied zwischen der Gesamtdosis und dem Substanzgehalt im Ejakulat Zehnerpotenzen. Das bedeutet mit großer Wahrscheinlichkeit - identische Verhältnisse beim Menschen vorausgesetzt - klinische Belanglosigkeit.

1 Zusammenfassung

1.1 Das Urteil betrifft eine Klage gegen ein Patent für [illegible]. Es befasst sich mit der Frage, ob [illegible] patentierbar sind.

1.2 Folgende Unterlagen wurden eingereicht:

1.2.1 Im Jahr [illegible] wurde die Anmeldung der Entscheidung über [illegible] eingereicht.

1.2.2 Der Kläger wurde [illegible] zu verschiedenen Zeiten [illegible] entnommen und auf Entscheidungen [illegible].

1.2.3 Der [illegible] Tagen, die wiederholt [illegible] Anmeldungen [illegible], wurden die Urteile auf [illegible].

1.2.4 [illegible] wurden [illegible] Klägers [illegible]. Die Urteile [illegible] auf [illegible] Entscheidungen [illegible].

1.3 Folgende Sachverhalte wurden ermittelt:

1.3.1 Der größte Teil [illegible] 75 %, der Urteile wurde innerhalb von 2 Jahren über die Klagen entschieden.

1.3.2 Nach [illegible] [illegible] die Urteilskonzentration schneller [illegible] als nach [illegible]. Der [illegible] [illegible] [illegible] [illegible].

5.3.3 Die Substanz wurde mit dem Ejakulat ausgeschieden; es stellte sich kein konstantes Verhältnis zwischen den Substanzkonzentrationen in Blut und Ejakulat ein.

5.3.4 Es wurde vom weiblichen Organismus Substanz aus dem Ejakulat resorbiert.

5.4 Die Ergebnisse wurden im Zusammenhang mit der vorhandenen Literatur und im Hinblick auf ihre mögliche Bedeutung für die Anwendung von Arzneimitteln - insbesondere von neu entwickelten - diskutiert.

6 Literaturverzeichnis

1 AUSTIN, C.R. Sperm Capacitation - Biological Significance in Various Species Advances in the Biosciences 4,5 (1969)

2 BEDFORD,J.M. The Influence of Oestrogen and Progesterone on Sperm Capacitation in the Reproductive Tract of the Female Rabbit J. Endocr. 46,191 (197o)

3 CHANG,M.C. Effects of Progesterone and Related Compounds on Fertilisation, Transportation and Development of Rabbit Eggs Endocr. 81, 1251 (1967)

4 ERICSSON,R.J., CORNETTE,J.C., BUTHALA,D.A. Binding of Sex Steroids to Rabbit Sperm Acta Endocr. 56, 424 (1967)

5 ERICSSON,R.J. Methods for Mearurements of Sperm Capacitation in Different Species Advances in the Biosciences 4, 51 (1969)

6 GERHARDS,E., HECKER,W., HITZE,H., NIEUWEBOER,B., BELLMANN,O. Zum Stoffwechsel von Norethisteron und DL- sowie D-Norgestrel beim Menschen Acta Endocr. 68, 219 (1971)

7 GOLDZIEHER,J.W., MOSES,L.E., ELLIS,L.T. Studies of Norethindrone on Contraception J. Amer. Med. Ass. 18o, 359 (1962)

8 GONZALEZ-ANGULO,A., MARQUES-MONTER, H., GUTIERREZ-NAJAR,A.,AZNAR, R., GINER,J., LOPEZ-LLERA,M., MARTINEZ-MANAUTOU,J. Electron Microscopic Studies of Endocervix Endometrium, Fallopian Tubes and Ovaries of Woman under Contraceptive Therapy with Chlormadinone Excerpta med. Found. Internat. Ser. No. 157, 39 (1968)

9 GWATKIN,R.B.L., WILLIAMS,D.T. Inhibition of Sperm Capacitation in Vitro by Contraceptive Steroids Nature 221, 182 (197o)

1o LACHNIT,U. Wirkungsmechanismen der hormonellen Kontrazeption Naturwissenschaften 58, 352 (1971)

11 MACK,H.C. Symposium on Physiology and Pathology of Reproduction: Biology of Fertilisation and Implantation Contraception 3, 55 (197o)

12 MISHELL,D.R., LUMKIN,M. Contraceptive Effect of Varying Dosages of Progestogen in Silastic Vaginal Rings Fertil. and Steril. 21, 99 (197o)

13 MORRIS MCLEAN, J., G. VAN WANGENEN Compounds Interfering with Ovum Implantation and Development III. Estrogens. Amer. J. Obstet. Gynec. 96, 8o4 (1966)

14 ODEBLAD,E. Biophysical Composition of Cervical Mucus and Spermmigration during Treatment with Conluten and Conlunett Acta Obstet. Gynec. Scand. 47 Suppl. 8, 7 (1968)

15 ODEBLAD,E. Control of Human Fertility: Cervical Factors 15. Nobel Sympos., 89 May 197o, Sweden

16 ODELL,W.D. Physiology of Reproduction 58-62 C.V. Mosby Company (1971)

17 PINCUS,G., ROCK,J., GARCIA,R.C. Effects of Certain 19-Norsteroids upon Reproductive Processes Ann. N.Y. Acad. Sci. 71, 677 (1958)

18 ROCK,J., PINCUS,G., GARCIA,R.C. Effects of Certain 19-Norsteroids on the Normal Human Menstrual Cycle Science 124, 891 (1956)

19 ROLAND,M. Prevention of Spermmigration into the Uterine Cavity by a Microdose Progestagen Fertil. and Steril. 21, 211 (197o)

2o RUDEL,H.W., MARTIANEZ-MANAUTOU,J., MAQUEO-TOPETE,M. The Role of Progestogens in the Hormonal Control of Fertility Fertil. and Steril. 16, 151 (1965)

21 SCHMUCKER,O. Persönliche Mitteilung aus bisher unveröffentlichten Arbeiten

22 SWYER,G.J.M., LITTLE,V. Clinical Assesments of Relative Potency of Progestagens J. Reprod. Fert. Suppl. 5, 63 (1968)

23 YEN,S.C.C. Mestranol in Ovulation Suppression Fertil. and Steril. 16, 97 (1965)

24 ZANARTU,J. Effect of Synthetic Oral Gestagens on Cervical Mucus and Sperm Penetration Int. J. Fertil. 9, 225 (1964)

25 ZANARTU,J., PUPKIN,M., ROSENBERG,D., GUERRERO,R., RODRIGUEZ-BRAVO, R., GARCIA-HUIDOBRO,M., PUGA,J.A. Effect of Oral Continous Progestogen Therapy in Microdosage on Human Ovary and Sperm Transport Brit. Med. J. 1, 266 (1968)

Herrn Professor Dr. med. Gerhard Laudahn möchte ich für die Überlassung des Themas, für wertvolle Anregungen sowie Durchsicht und Korrektur der vorliegenden Arbeit herzlich danken.
Herrn Dr. K. H. Kolb, dem Leiter des Departments Biodynamik der Schering AG, danke ich dafür, daß er mir die Möglichkeit gab, in seiner Abteilung zu arbeiten und die Versuche durchzuführen.
Allen Mitarbeitern des Departments Biodynamik, besonders Fräulein Sabine Römer, gilt mein besonderer Dank für Hilfe beim Erlernen der Arbeit mit Radioisotopen und bei der Versuchsdurchführung.

Lebenslauf

Am 23. Juli 1947 wurde ich als Tochter des Chemikers Dr. Ferdinand Bohlmann und dessen Ehefrau Dr. Magdalene Bohlmann, geb. Rahtz in Schleswig geboren.
Nach vier Grundschuljahren in Braunschweig besuchte ich ein dortiges neusprachliches Mädchengymnasium. Nach dem Umzug der Familie nach Berlin 1959 besuchte ich die Waldschule, die ich 1967 mit dem Abitur verließ.
Zum Sommersemester 1967 wurde ich an der Freien Universität Berlin zum Studium der Humanmedizin immatrikuliert. 1968 legte ich das Vorphysikum und 1969 das Physikum ab.
Im Anschluss an die klinischen Semester bestand ich im Winter 1972/73 das medizinische Staatsexamen.
Seit Juni 1973 arbeite ich im Städtischen Krankenhaus Spandau Nord als Medizinalassistentin.
197o heiratete ich den Studenten Klaus Kielmann.